

明 細 書

歯槽骨の吸収及び歯根膜喪失を抑制する方法及びそれに用いる内服組成物

技 術 分 野

- 5 本発明は、骨密度が低下傾向の者、閉経後女性又は歯周病メンテナンス期にある者の歯槽骨の吸収及び歯根膜の喪失を抑制する方法並びに歯肉の退縮を抑制する方法並びに大豆イソフラボンアグリコン、カルシウム及びビタミンD₃を含有する、内服組成物、歯肉の退縮の予防又は治療剤、歯槽骨吸収及び歯根膜喪失の予防又は治療剤に関する。

10

背 景 技 術

- 骨密度の低下の原因には、加齢によるもの、カルシウムの摂取不足など栄養・嗜好によるもの、運動不足によるもの、副腎皮質ホルモン等薬剤によるもの等が挙げられる。特に女性においては、閉経にともなうエストロゲン分泌低下から、
15 急激な骨量の低下が生じやすい。ここで、骨密度が低下している者とは、1994年にWHO研究班から出された診断基準によると、骨密度が成人若年平均値の-1SD (Standard Deviations) 以下の者、1996年に日本骨代謝学会から出された診断基準によると、骨密度が若年成人平均値 (YAM) の80%以下の者である。

- 20 一方、歯周病は、特定の歯周病原菌による感染症であり、そのような歯周病原菌としては、ポリフィロモナス・ジンジバリスに代表されるグラム陰性嫌気性細菌が挙げられる。歯周病原菌は、歯頸部の根面に付着したプラークの中で増殖し、周辺の歯肉や歯根膜、歯槽骨を含む組織領域に慢性的な炎症を惹起することにより、歯周病を発症させる。歯周病は、歯周病原菌の惹起した慢性的な炎症により、
25 歯を支えている歯槽骨の吸収が進行する疾患であり、先進国では歯を失う最大の原因となっている。

これまでに、閉経後女性において、骨密度の低下と歯周病の進行度には、関連性があることが明らかとなっており(黒須康成 他, 日歯保誌: 1998)、骨量の低下は歯周病のリクス因子とされている。

また、骨密度の低下が歯周病の進行に関与していることを手がかりとして、骨吸収抑制剤であるビスホスホネートを用いた動物実験が行われ、ビスホスホネートが実験的歯周炎の歯槽骨吸収抑制に有用であることが報告されている（Reddy et al : J Periodontol 66(3) 211-217, 1995）。しかし、ビスホスホネートは
5 副作用が強く、長期間の服用が望まれる歯周病の治療には適さない。これらのことから、安全性が高い製剤の開発が望まれていた。

さらに、歯周病の治療を受けた後も、歯周組織は完全に回復しないため、治療部位では歯根面が露出した状態となる。そして、治療部位は、治療の過程で炎症部位や汚染組織を物理的に除去していることなどの理由から、歯肉の退縮が起こりやすい。従って、歯周病治療後の病状安定期間（メインテナンス期）は、歯肉の退縮および歯周病再発の可能性が高く、歯肉の退縮の抑制、歯槽骨や歯根膜などの歯周組織の維持のための安全性が高い製剤の開発が望まれる。
10

又、カルシウムが、成長期の子供、妊娠期の女性などにおいて、歯槽骨の骨カルシウム濃度を維持もしくは強化するために必要な栄養成分であることが周知であることから（文献「ビタミンD欠乏による歯槽骨の変化に関するX線的、光顕的および走査型電顕的研究」九州歯科学会雑誌46, pp 67-88, 1992年）、カルシウム補充食品類が多数提供されている。一部の特定のカルシウム塩（例えばパントテン酸カルシウム）は、歯周病に関連する歯槽骨吸収を抑制することが知られている（特開平08-133969号公報）。このように、カルシウムおよびカルシウム塩の摂取が歯周病に対し、ある程度の予防的効果を上げることは認められている。
15
20

一方、大豆イソフラボンは、抗菌性、天然の骨代謝改善作用を有する成分を豊富に含んでいることが知られており、骨粗鬆症予防、全身の骨強化目的のため内服の栄養補給剤として、カルシウム塩、ビタミンDとともに配合された実績をもち、米国では、商品名 Osteo Soy（FreeLife 社、米国）、Soylife（Schouten 社、米国）として販売された実績をもつ。これらは一般のカルシウム補給剤と同様に、内服用タブレット、カプセル、パウダー状であり、歯周病予防を目的として設計されたものではない。大豆イソフラボンの中でも特にゲニステインは歯周病原菌に対し抗菌力を示すことから、抗歯周病剤（特開平04-283518号公
25

報)、高溶解性カルシウムを併用した歯周病予防または歯周病進行予防食品組成物(特開平11-243910号公報)として、利用されている。しかし、上記の歯周病予防は、大豆イソフラボンの抗菌性によるものであり、歯根膜喪失を抑制したという報告はいまだ無い。

5

発 明 の 開 示

本発明は、長期間服用しても安全性が高く、且つ、骨密度が低下気味の人及び閉経後女性に対し、歯槽骨の吸収及び歯根膜の喪失を抑制するため或いは歯肉の退縮の抑制のための方法、内服組成物、予防又は治療剤を提供することを目的とする。

10

本発明者らは、鋭意検討した結果、大豆イソフラボンアグリコン、カルシウム及びビタミンD₃を併用することにより、歯槽骨の吸収、歯根膜の喪失及び歯肉の退縮が抑制されることを見出し、本発明を完成させた。

15

すなわち、本発明は、下記の内服組成物、予防又は治療剤及び方法を提供するものである。

20

1. 大豆イソフラボンアグリコン、カルシウム及びビタミンD₃を含有する歯槽骨吸収抑制用及び歯根膜喪失抑制用の内服組成物。

2. 大豆イソフラボンアグリコン、カルシウム及びビタミンD₃を含有する歯肉の退縮の予防又は治療剤。

3. 大豆イソフラボンアグリコン、カルシウム及びビタミンD₃を含有する歯槽骨吸収及び歯根膜喪失の予防又は治療剤。

4. 大豆イソフラボンアグリコン含有量が0.001~10重量%であり、カルシウム含有量が0.01~50重量%である項1~3のいずれかに記載の組成物或いは予防又は治療剤。

25

5. 骨密度低下者、閉経後女性又は歯周病メンテナンス期にある者用である項1~3のいずれかに記載の組成物或いは予防又は治療剤。

6. 大豆イソフラボンアグリコンが、全粒大豆から抽出した大豆イソフラボンアグリコンであって、大豆イソフラボンアグリコン中のゲニステインとダイゼインの重量比が1:1~1.5:1の範囲で、かつゲニステイン及びダイゼインの

含有量があわせて大豆イソフラボン中の90%以上であることを特徴とする項1に記載の組成物。

7. 項1～6のいずれかに記載の組成物を経口的に摂取させることを特徴とする歯槽骨の吸収及び歯根膜の喪失を抑制する方法。

- 5 8. 大豆イソフラボンアグリコン、カルシウム及びビタミンD₃を経口的に摂取させることを特徴とする歯肉の退縮を予防又は治療する方法。

9. 大豆イソフラボンアグリコン、カルシウム及びビタミンD₃を経口的に摂取させることを特徴とする歯槽骨の吸収及び歯根膜の喪失を予防又は治療する方法。

- 10 10. 投与対象が、骨密度が低下している者、閉経後女性又は歯周病メンテナンス期にある者である項8又は9に記載の方法。

11. 一日あたり大豆イソフラボンアグリコン投与量が10mg～40mg、カルシウム投与量が500mg～2000mgであることを特徴とする項9又は10に記載の方法。

- 15 なお、本明細書において、歯肉の退縮とは、歯肉の辺縁が、歯牙のセメント質とエナメル境、すなわちセメントーエナメル境よりも歯牙の根尖側に下がることにより、歯根部が露出する現象をいい、例えば臨床アタッチメントレベル（CAL）から歯周ポケット深さ（PD）を引いた数値で評価することができる（図1参照）。また、本明細書において、歯周病のメンテナンス期にある者とは、歯周病の治療を終了し、臨床的には回復した状態で、病状は安定しているが、要観察時期にある者を包含する。
- 20

- 本発明に用いる大豆イソフラボンアグリコンは、大豆イソフラボンの非配糖体であり、例えば、ゲニステイン、ダイゼイン、グリシテイン等が挙げられ、通常、大豆イソフラボン配糖体の加水分解物として得られる。このような大豆イソフラボンアグリコンは、例えばマメ科（Leguminosae）の植物であるダイズ（*Glycine max* Merrill）の種子（全粒大豆）を用い、特開昭62-126186号公報に記載された公知の方法などにより抽出された配糖体を、精製段階で酸加熱もしくはβ-グルクロニダーゼ酵素を用いて加水分解して得られる。
- 25

大豆全粒から大豆抽出液、あるいは大豆粉碎物からイソフラボン配糖体を得、

またその配糖体からアグリコンを得る方法については、特に限定されるものではない。また、全粒大豆の代わりに杯軸を用いると効率良くイソフラボンが得られるが配糖体であるダイジン、グリシチン等の含有量が多いが、これを加水分解しても非配糖体であるゲニステイン、ダイゼイン等になりにくい傾向がある。このため、全粒大豆の方が、胚軸より、ゲニステイン、ダイゼイン等の大豆イソフラボンアグリコンの製造の原料としては有利である。

本発明に用いる大豆イソフラボンアグリコンとしては、ゲニステイン及びダイゼインからなる群から選択される少なくとも1種のアグリコンが好ましい。さらに、ゲニステインとダイゼインとを重量比で1 : 1 ~ 1.5 : 1となるよう併用することが好ましい。また、ゲニステインがダイゼインより多く含有されていることが好ましい。さらにまた、大豆イソフラボンアグリコン全量中のゲニステイン及びダイゼインの重量和が大豆イソフラボンアグリコン全量の90%以上であることが好ましい。また、大豆イソフラボンアグリコンには他の賦形剤を加えて粉末化し、種々の内服製剤に適した形態としたり、乳化剤、可溶化剤を加えた製剤、サイクロデキストリンで包接させた製剤等の飲料に適した形態として用いることができる。

本発明の組成物或いは予防又は治療剤における、大豆イソフラボンアグリコンの配合量は、本発明の所望の目的を達成できる限り特に限定はされるものではないが、組成物或いは予防又は治療剤全量に対して、通常0.001 ~ 10重量%、好ましくは0.005 ~ 5.0重量%である。また、本発明の歯槽骨の吸収及び歯根膜の喪失を抑制する方法並びに予防又は治療する方法における、大豆イソフラボンアグリコンの投与量は、成人1人1日あたり通常10 ~ 40mg、好ましくは10 ~ 20mgであり、1日1回又は2回以上に分けて投与することができる。

本発明に用いられるカルシウムとしては、天然、あるいは合成の何れであってもよい。天然カルシウムとしては、蛎殻、卵殻、珊瑚、牛骨、牛乳由来のカルシウムなどが挙げられるし、カルシウム供給源としてこれらそのもの又はその粉碎物、乾燥物などの粗精製品も使用できる。合成カルシウムとしては、グルコン酸カルシウム、乳酸カルシウム、塩化カルシウム、グリセロリン酸カルシウム、パ

ントテン酸カルシウム、第三リン酸カルシウム、炭酸カルシウム、クエン酸カルシウムが例示できる。これらカルシウムは、単独で用いてもよく、二種以上を組み合わせて使用することもできる。

本発明の組成物或いは予防又は治療剤における、カルシウムの配合量は、本発明の所望の目的を達成できる限り特に限定はされるものではないが、組成物或いは予防又は治療剤全量に対して、カルシウム純分として、通常0.01～50重量%、好ましくは0.1～20重量%である。また、本発明の歯槽骨の吸収及び歯根膜の喪失を抑制する方法並びに予防又は治療する方法における、カルシウムの投与量は、成人1人1日あたり通常500～2000mg、好ましくは500～1000mgであり、1日1回又は2回以上に分けて投与することができる。

本発明において使用されるビタミンD₃は、コレカルシフェロールとも呼ばれる。本発明の組成物或いは予防又は治療剤に、ビタミンD₃を配合する場合、結晶のビタミンD₃であっても良いし、安定化のために製剤化されたビタミンD₃であってもよい。本発明の組成物或いは予防又は治療剤における、ビタミンD₃の配合量は、本発明の所望の目的を達成できる限り特に限定はされるものではないが、組成物或いは予防又は治療剤全量において、通常、 10^{-8} ～ 10^{-1} 重量%、好ましくは 10^{-7} ～ 10^{-2} 重量%である。また、本発明の歯槽骨の吸収及び歯根膜の喪失を抑制する方法並びに予防又は治療する方法における、ビタミンD₃の投与量は、成人1人1日あたり通常200IU～800IU、好ましくは200IU～400IUであり、1日1回又は2回以上に分けて投与することができる。

本発明の組成物は、歯槽骨吸収抑制及び歯根膜喪失抑制のための内服組成物である。ここで、内服組成物としては、例えば、食品組成物、医薬組成物などが例示され、好ましくは食品組成物である。本発明の内服組成物の形態は、食品及び医薬の分野で利用される形態を包含するが、特に口腔内に一時的に留める時間が長いもの、例えばトローチ、チューインガム、チュワブルタブレット、グミキャンディー、キャンディーといった剤形は口腔内に留まる時間が長いいため望ましい形態である。中でもトローチまたはチュワブルタブレットの形態が好ましい。こ

のようなトローチ及びチュアブルタブレットなどの錠剤は好ましくは下記の方法によって製造される。

すなわち、大豆イソフラボンアグリコンと場合によりカルシウムと糖アルコール及びその他賦形剤を粉体混合し（用いる粉体の粒径は $250\mu\text{m}$ 以下）、アルコールや水、必要に応じて、さらにポリデキストロースや還元デキストリンやマルチトールやマルトトリイトール等の2糖以上の重合還元糖を単独あるいは組合せて粉体を湿潤させ造粒して顆粒とする。最後にこの顆粒に必要なに応じて香料やビタミンD₃製剤、滑沢剤あるいは熱や水分に弱い有用成分などを混合し打錠する。次いで、ロータリー打錠機を用いて、直径 $12\sim 20\text{mm}$ 以下、厚み $3\sim 6\text{mm}$ 、1錠あたり 500 から 3000mg に打錠する。その錠剤の硬度は木屋式硬度計にて直径方向で測定するとき、 $5\sim 15\text{kg}$ 、特に $7\sim 13\text{kg}$ であることが最も好ましい。

また、本発明の予防又は治療剤は、歯槽骨吸収及び歯根膜喪失の予防又は治療或いは歯肉の退縮の予防又は治療に有用であり、大豆イソフラボンアグリコン、カルシウム及びビタミンD₃を有効成分とする。予防又は治療剤の形態は経口的な摂取に適用できる限り特に制限されず、例えば、食品、医薬品などにおける経口的な摂取に利用される形態を採用することができる。

本発明の内服組成物及び予防又は治療剤において、本発明の効果を損なわない限り、通常食品に含まれるような添加物、例えば、pH調整剤、有機酸、糖アルコール、甘味料、香料、歯垢形成抑制素材、口臭抑制素材等、医薬品に利用される可食性の添加物、例えば賦形剤、他の有効成分、担体などを適宜配合することができる。このような添加物の素材の具体例としては、リン酸塩、リンゴ酸、クエン酸、乳酸、パントテン酸、ソルビトール、キシリトール、エリスリトール、パラチニット、パラチノース、マルチトール、還元デンプン糖、還元イソマルトオリゴ糖等の異性化糖乃至糖アルコール、ガムベース、アラビアガム、ゼラチン、セチルメチルセルロース、サッカリンナトリウム、アスパルテーム、ステアリン酸マグネシウム、グラニュー糖、粉糖、水飴、微結晶セルロース、 1-メントール 、ビタミンD₃以外のビタミンD群、ビタミンK等のビタミンK群、ビタミンP、リジン、マグネシウム塩、カルシトニン、イプリフラボン等が挙げられる。

これら添加物の使用量は特に限定されず、使用の目的等に応じて適宜選択することができる。

本発明の歯槽骨の吸収及び歯根膜の喪失を抑制する方法は、前記内服組成物、
5 予防剤及び治療剤からなる群から選択される少なくとも1種を経口的に摂取させることを特徴とする。また、本発明の歯肉の退縮を予防又は治療する方法或いは
歯槽骨の吸収及び歯根膜の喪失を予防又は治療する方法は、大豆イソフラボンア
グリコン、カルシウム及びビタミンD₃を経口的に摂取させることを特徴とする。

これらの方法において、投与対象は哺乳類であれば特に制限されないが、好ま
しくは骨密度低下者、閉経後女性又は歯周病メンテナンス期にある者である。
10 骨密度低下者は、骨密度が成人若年平均値の $-1SD$ （標準偏差）以下のものでは
ある。

投与量、投与形態等については、上記の本発明の内服組成物、予防又は治療剤
の説明に記載されている。

15 図面の簡単な説明

図1は、歯冠、歯根及び歯周組織の断面図であり、CAL、PD 及び歯肉の退縮の
関係を示す。

図2は、試験例1において得られた歯肉溝浸出液（GCF）中のMMP-8 レベルの
経時変化を示すグラフである。

20 発明を実施するための最良の形態

以下、実施例および試験例を挙げて本発明をより詳細に説明するが、本発明は
これらに限定されるものではない。また特に断らない限り「％」は「重量％」を
意味する。

25 試験例1：歯周病メンテナンス患者を用いた骨吸収及び歯根膜喪失抑制試験

1. 被験者

被験者は、閉経後1年以上経過した女性歯周病患者50名を対象とした。被験
者にはその選定にあたり、重篤な全身的基礎疾患がなく、ホルモン補充療法や骨
粗鬆症の薬剤による治療、過去3ヶ月以内に外科的な歯周治療や抗生物質の投与

を行っていないことを確認した。被験者50名を、試験群およびプラセボ群の2群に、無作為に割り付けた。

2. 試験製剤

5 試験製剤の処方

貝殻未焼成カルシウム 650mg (カルシウム分として250mg)

大豆イソフラボン抽出物 17mg

(大豆イソフラボンアグリコンを5mg含有)

(ゲニステイン：ダイゼイン=1.3：1)

10 ビタミンD₃ 2.5μg (100IU)

糖アルコール 残部

甘味料、香料等 140mg

合計 2000mg/錠

15 3. 試験方法

被験者は、24週間にわたり、1日2錠のタブレット状の試験製剤を朝食後に摂取した。製剤配布時（以下ベースラインとする）、製剤摂取開始後12週目及び24週目には、問診、口腔内の規格X線写真撮影、歯周組織診査、生化学的マーカー測定のための歯肉溝浸出液（Gingival Crevicular Fluid、以下GCFとする）の採取を実施した。被験者の食事等によるCaと、大豆イソフラボンであるダイゼイン及びゲニステインの摂取量は、食事記録より管理栄養士が算出した。

4. 歯周組織診査

1) 歯周ポケットの深さ（Pocket Depth（以下PDとする））及び臨床的アタッチメントレベル（Clinical Attachment Level（以下CALとする））

1mm単位が目盛りのついた長さ15mmのプロープ（UNC15、Hu-Friedy、USA）を使用し、第三大臼歯を除く全歯を6点法にて0.5mm単位でPDとCALを測定した。なお、CALはセメント-エナメル境から歯周ポケット底までの距離を表す（図1参照）。

2) 歯肉の退縮

各部位のCALよりPDを引いて算出した値を歯肉の退縮とした。

3) 歯槽骨高さ (Alveolar Bone Height (以下ACHとする))

両側臼歯部に対し、咬翼法にて規格X線写真撮影を行い、同一術者により歯根
5 面に沿ってセメント-エナメル境から歯槽骨頂までの距離を測定した。

5. GCF中の生化学的マーカーの測定

GCFは、Periopaper (Proflow™ Incorporated, USA) を用いて、上顎右側および
下顎左側の第3臼歯の頬側近心部より採取した。Periopaperはポケット底部まで
10 挿入し、10秒間放置した後取り出して、Periotron 8000 (Harco Electronics, US
A) でGCF量を測定した。Periopaperはマイクロチューブに入れた後、結合組織破
壊の指標であるマトリックスメタロプロテアーゼ-8 (以下MMP-8とする) の測定
に供した。MMP-8は、トリス塩酸緩衝液 (pH 7.6) にて抽出処理後、MMP-8 Human B
iotrak ELISA System (Amersham Biosciences, USA) を用いて測定を行った。なお
15 、MMP-8量は採取した各部位のGCF中の総量に含まれる量として計算した。

6. 統計解析

被験者の背景因子、ACH、PD、CAL及び歯肉の退縮は、全て一元配置分散分析 (A
NOVA) とその後の多重比較検定によって解析を行った。PDとCALは、測定値の小
20 数点以下第1位を切り捨てた後、解析に用いた。群内の経時変化は、ボンフェロー
ニ修正のノンパラメトリック検定で解析を行った。検定における有意水準は、両
側5%とした。

7. 結果

25 1) 概況

各群の年齢、BMI、閉経年齢、閉経後の年数、喫煙者数、現在歯数、試験期間
中の食事からの平均Ca摂取量とダイゼイン量、ゲニステイン量の背景因子にお
いて、各群間に有意差は認められなかった。

2) 歯周組織検査

CAL、歯肉の退縮及びACHのベースライン時の被験者平均値は、各群間に有意差は認められなかった。

2-1) CAL

表1にCALの平均値及び変化率（12週又は24週までのCAL平均値の変化量をベースライン時のCAL平均値で除した値）の平均値を示す。既に治療を受け、メンテナンス管理されているベースライン時で3mm以上のCALが認められた部位については、どちらの群でも12及び24週目において有意なベースライン時からの減少が認められた。ベースライン時の群間の差を調整するため、ベースライン時のCALで、12週又は24週までのCAL変化量を除した変化率について解析を行った結果、試験群ではプラセボ群と比較して24週目にそれぞれ有意なCALの改善が認められた。

表1

群	CAL平均値 (mm)			CAL変化率 (%)	
	ベースライン時	12週目	24週目	Δ12週	Δ24週
試験群	3.90	3.42	3.34	-12.5	-14.2
プラセボ群	4.08	3.75	3.74	-8.9	-8.9

2-2) 歯肉の退縮

表2に歯肉の退縮の平均値及び変化率（12週又は24週までの歯肉の退縮平均値の変化量をベースライン時の歯肉の退縮平均値で除した値）を示す。試験開始時に既に歯肉の退縮が有った部位は、試験開始時と比較して、12週目、24週目の歯肉の退縮が試験群、プラセボ群で有意に改善した。しかし、試験群の歯肉の退縮の変化率は、試験終了時ではプラセボ群と有意な差があった。

表2

群	歯肉の退縮平均値 (mm)			歯肉の退縮変化率 (%)	
	ベースライン時	12週目	24週目	Δ12週	Δ24週
試験群	1.70	1.19	1.08	-30.1	-37.8
プラセボ群	1.97	1.74	1.74	-15.0	-16.4

2-3) ACH

表3にACHの変化率（12週又は24週までのACH平均値の変化量をベースライ

ン時のACH平均値で除した値)を示す。ベースライン時の群間の差を調整するため、ベースライン時のACHで各週までの変化量を除した変化率について解析を行った結果、試験群はプラセボ群と比較してACHの抑制傾向が認められ、特に12週目ではプラセボ群に対し有意差が認められた。

5 表 3

群	ACH変化率 (%)	
	Δ12週	Δ24週
試験群	0.3	0.3
プラセボ群	7.1	9.5

2-4) GCF中のMMP-8レベル

図2にベースライン時、12週目、24週目のMMP-8の平均値を示す。プラセボ群では、変化が全く無かったが、試験群では12週目および24週目でベースライン時
10 からの有意な減少がそれぞれ認められた。

以上の結果から、下記の点が確認された。

・本試験製剤により、閉経後の歯周病のメンテナンス期にある患者の、CALの改善が促進されたことから、歯根膜による結合組織性の付着、すなわち歯根膜が
15 歯槽骨と歯根面(セメント質)の間を介して得られる正常な歯周組織の付着様式を改善する作用が認められた。また、本試験製剤によりMMP-8のレベルが抑制されたことから、歯根膜を主とする結合組織の喪失を予防する作用が認められ、歯根膜喪失抑制に有用であることが確認された。

・歯槽骨の吸収は閉経後女性において急速に進行しやすいが、本試験においてAC
20 Hの増加がプラセボ群よりも抑制されたことから、歯槽骨吸収抑制効果が確認された。

・歯肉の退縮は治療後の部位で特に発生しやすいが、本試験において歯肉の退縮が改善されたことから、歯周病の再発のみならず、歯根の露出による根面う蝕、知覚過敏を予防及び／又は改善し、審美面においても改善されることが確認され
25 た。

実施例1 顆粒剤 (1日4g摂取)

常法により、下記成分を用いて顆粒剤を製造した。

成分		分量 (%)
乳清カルシウム		50.00
5	(カルシウム純度26%)	
大豆イソフラボン抽出物		1.00
(アグリコン純度30%)		
(ゲニステイン：ダイゼイン=1.5：1)		
油溶性甘草抽出物		1.00
10	ビタミンD ₃ (ビタミンD ₃ 純度0.25%)	0.05
キシリトール		40.00
パラチニット		残部
アスパルテーム		0.10
アラビアガム		1.00
15	香料	2.50
合計		100.00

実施例2 口腔内溶解錠 (1日4g摂取)

常法により、下記成分を用いて口腔内溶解錠を製造した。

成分		分量 (%)
20 蛎殻カルシウム		35.00
(カルシウム純度39%)		
大豆イソフラボン抽出物		0.5
(アグリコン純度70%)		
25 (ゲニステイン：ダイゼイン=1.3：1)		
パラチニット		残部
マルチトール		30.00
ビタミンD ₃ (ビタミンD ₃ 純度0.25%)		0.05
ポリデキストロース		5.00

	蔗糖脂肪酸エステル	4. 0 0
	ココアパウダー	5. 0 0
	スクラロース	1. 0 0
	香料	2. 5 0
5	合計	1 0 0. 0 0

実施例 3 口腔内溶解錠 (1日 4 g 摂取)

常法により、下記成分を用いて口腔内溶解錠を製造した。

	成分	分量 (%)
10	第三リン酸カルシウム (カルシウム純度 3 9. 1 %)	3 5. 0 0
	大豆イソフラボン抽出物 (アグリコン純度 3 3 %)	1. 5 0
	(ゲニステイン：ダイゼイン = 1. 3 : 1)	
15	ビタミン K	0. 0 1
	ビタミン D ₃ 製剤 (ビタミン D ₃ 純度 0. 2 5 %)	0. 1
	キシリトール	3 1. 0 0
	パラチニット	残部
	クエン酸	0. 5 0
20	アラビアガム	1. 2 0
	ステアリン酸マグネシウム	1. 0 0
	香料	3. 0 0
	合計	1 0 0. 0 0

25 実施例 4 チューインガム (1日 2 0 g 摂取。大豆イソフラボンは 4 0 % 溶出。 カルシウムは 8 5 % 溶出、ビタミン D₃ は 4 0 % 溶出。)

常法により、下記成分を用いてチューインガムを製造した。

成分	分量 (%)
----	--------

	グルコン酸カルシウム乳酸カルシウム非晶質体 (カルシウム純度10%)	30.00
	茶抽出物	0.05
	大豆イソフラボン抽出物	0.25
5	(アグリコン純度70%) (ゲニステイン：ダイゼイン=1.3：1)	
	ガムペース	27.00
	エリスリトール	10.00
	キシリトール	38.00
10	ビタミンD ₃ (ビタミンD ₃ 純度0.25%)	0.0001
	還元麦芽糖水飴	残部
	香料	5.00
	合計	100.00

15 実施例5 キャンディー (1日30g摂取)

常法により、下記成分を用いてキャンディーを製造した。

蛎殻カルシウム、キシリトール、油溶性甘草抽出物、茶ポリフェノール抽出物、ビタミンD₃、及び粉末香料は粉体の状態でキャンディーセンターに配合した。

20

成分	分量 (%)
蛎殻カルシウム (カルシウム純度39%)	5.00
油溶性甘草抽出物	0.05
25 大豆イソフラボン抽出物 (アグリコン純度70%) (ゲニステイン：ダイゼイン=1.3：1)	0.1
キシリトール	5.00
茶ポリフェノール抽出物	0.05

	パラチニット	残部
	マルチトール	10.00
	アスパルテーム	0.04
	クエン酸	0.50
5	オイル香料	0.20
	粉末香料	0.30
	ビタミンD ₃ (ビタミンD ₃ 純度0.25%)	0.0001
	合計	100.00

10 実施例6 トローチ剤(1日8g摂取)

常法により、下記成分を用いてトローチ剤を製造した。

	成分	分量(%)
	クエン酸カルシウム	10.00
	(カルシウム純度21%)	
15	第三リン酸カルシウム	15.00
	(カルシウム純度39%)	
	大豆イソフラボン抽出物	0.25
	(アグリコン純度70%)	
	(ゲニステイン：ダイゼイン=1：1)	
20	ビタミンD ₃ (ビタミンD ₃ 純度0.25%)	0.05
	パラチニット	33.00
	キシリトール	残部
	カルボキシメチルセルロースナトリウム	1.00
	クエン酸	2.00
25	リンゴ酸	1.00
	アスパルテーム	0.50
	蔗糖脂肪酸エステル	4.00
	香料	2.00
	合計	100.00

実施例7 ドリンク剤 (1日100mL摂取)

常法により、下記成分を用いてドリンク剤を製造した。

成分	配合量
5 発酵乳酸 (50%水溶液)	0.97 g
グルコン酸 (50%水溶液)	3.88 g
グルコン酸カルシウム乳酸カルシウム非晶質体 (カルシウム純度10%)	5.00 g
大豆イソフラボンアグリコンー	
10 βサイクロデキストリン包接物 (アグリコン純度3%)	0.350 g
(ゲニステイン：ダイゼイン=1.5：1)	
エリスリトール	7.00 g
スクラロース	0.03 g
15 ステビア	0.01 g
ビタミンD ₃ (ビタミンD ₃ 純度0.2%)	0.003 g
精製水	残部
合計	100ml

請 求 の 範 囲

1.
大豆イソフラボンアグリコン、カルシウム及びビタミンD₃を含有する歯槽骨
5 吸収抑制用及び歯根膜喪失抑制用の内服組成物。
2.
大豆イソフラボンアグリコン、カルシウム及びビタミンD₃を含有する歯肉の
退縮の予防又は治療剤。
3.
10 大豆イソフラボンアグリコン、カルシウム及びビタミンD₃を含有する歯槽骨
吸収及び歯根膜喪失の予防又は治療剤。
4.
大豆イソフラボンアグリコン含有量が0.001～10重量%であり、カルシ
ウム含有量が0.01～50重量%である請求項1～3のいずれかに記載の組成
15 物或いは予防又は治療剤。
5.
骨密度低下者、閉経後女性又は歯周病メンテナンス期にある者用である請求
項1～3のいずれかに記載の組成物或いは予防又は治療剤。
6.
20 大豆イソフラボンアグリコンが、全粒大豆から抽出した大豆イソフラボンアグ
リコンであって、大豆イソフラボンアグリコン中のゲニステインとダイゼインの
重量比が1：1～1.5：1の範囲で、かつゲニステイン及びダイゼインの含有
量があわせて大豆イソフラボン中の90%以上であることを特徴とする請求項1
に記載の組成物。
7.
25 請求項1～6のいずれかに記載の組成物を経口的に摂取させることを特徴とす
る歯槽骨の吸収及び歯根膜の喪失を抑制する方法。
8.
大豆イソフラボンアグリコン、カルシウム及びビタミンD₃を経口的に摂取さ

せることを特徴とする歯肉の退縮を予防又は治療する方法。

9.

大豆イソフラボンアグリコン、カルシウム及びビタミンD₃を経口的に摂取させることを特徴とする歯槽骨の吸収及び歯根膜の喪失を予防又は治療する方法。

5 10.

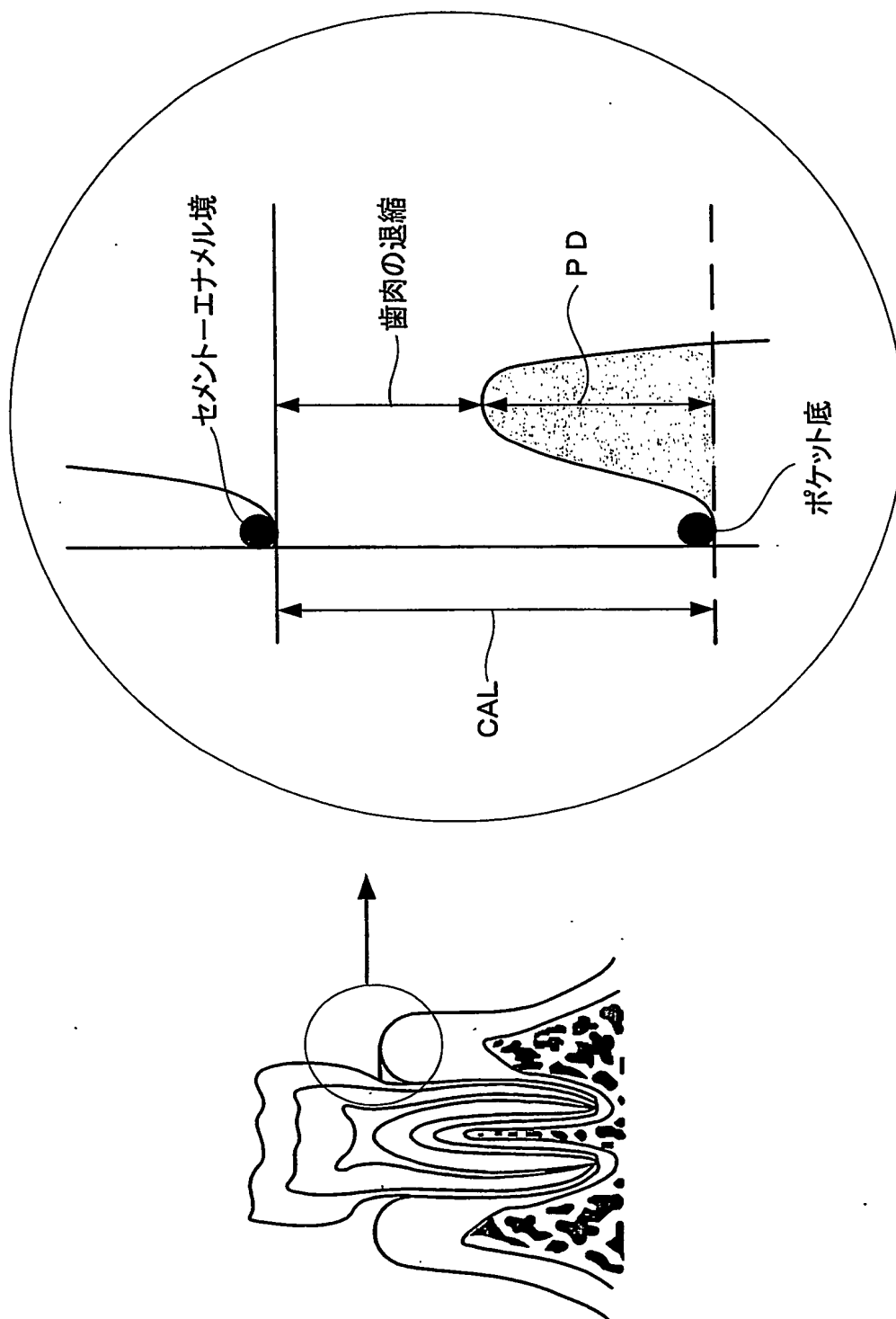
投与対象が、骨密度が低下している者、閉経後女性又は歯周病メンテナンス期にある者である請求項8又は9に記載の方法。

11.

10 一日あたり大豆イソフラボンアグリコン投与量が10mg～40mg、カルシウム投与量が500mg～2000mgであることを特徴とする請求項9又は10に記載の方法。

1/2

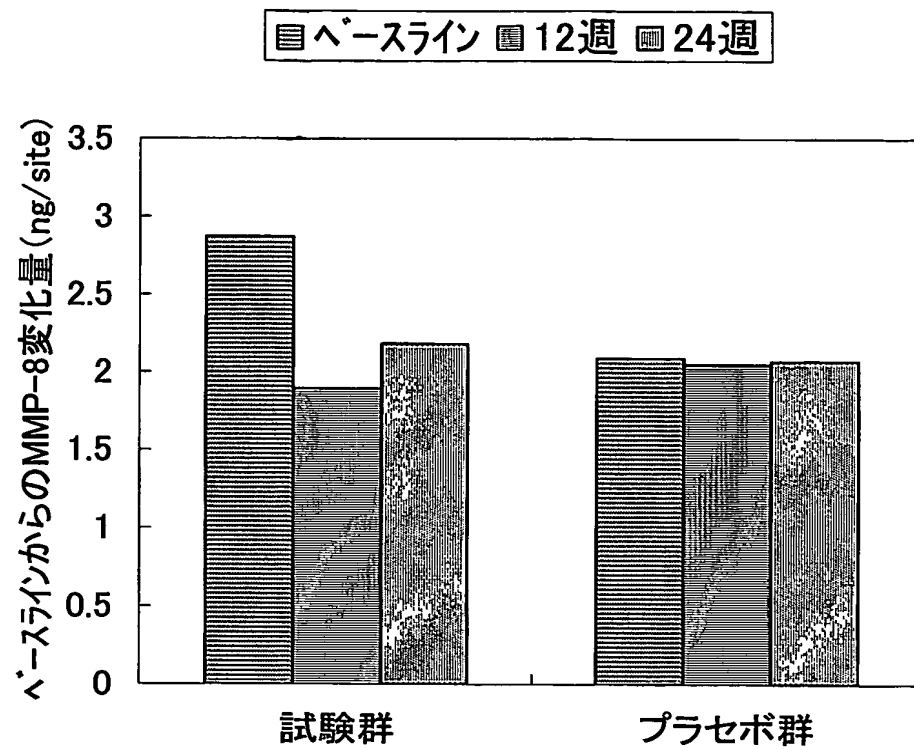
Fig. 1



2/2

Fig. 2

歯肉溝浸出液(GCF)中のMMP-8の経時変化



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/014123

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ A61K33/06, 31/352, 31/593, 35/78, A61P1/02

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ A61K33/06, 31/352, 31/593, 35/78, A61P1/02

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 11-243910 A (Sunstar Inc.), 14 September, 1999 (14.09.99), Claims 1 to 7; Par. Nos. [0005] to [0008], [0011]; examples 14, 18 & WO 99/44440 A1	1-6
X	JP 2002-121133 A1 (Sunstar Inc.), 23 April, 2002 (23.04.02), Claims 1 to 5; examples 16, 17 (Family: none)	1-6
X	JP 2002-121146 A (Sunstar Inc.), 23 April, 2002 (23.04.02), Claims 1 to 2; Par. No. [0006]; examples 5, 6, 8, 17 (Family: none)	1-6

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
04 November, 2004 (04.11.04)

Date of mailing of the international search report
22 November, 2004 (22.11.04)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/014123

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 8-133969 A (Lion Corp.), 28 May, 1996 (28.05.96), Full text (Family: none)	1-6

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/014123

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 7-11
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claims 7 to 11 are relevant to methods for treatment of the human body by surgery or therapy and diagnostic methods.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP2004/014123

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.⁷ A61K33/06, 31/352, 31/593, 35/78, A61P1/02

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.⁷ A61K33/06, 31/352, 31/593, 35/78, A61P1/02

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	JP 11-243910 A (サンスター株式会社) 1999.09.14, 請求項 1-7, 【0005】~【0008】, 【0011】, 実施例 14、18 & WO 99/44440 A1	1-6
X	JP 2002-121133 A1 (サンスター株式会社) 2002.04.23, 請求項 1-5, 実施例 16、17 (ファミリーなし)	1-6
X	JP 2002-121146 A (サンスター株式会社) 2002.04.23, 請求項 1-2, 【0006】, 実施例 5、6、8、17 (ファミリーなし)	1-6

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

04.11.2004

国際調査報告の発送日

22.11.2004

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

渡辺 仁

4C

3229

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	JP 8-133969 A (ライオン株式会社) 1996. 05. 28, 全文 (ファミリーなし)	1-6

法第8条第3項（PCT17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

- 第Ⅲ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの3の続き）

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみにについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。

☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。